Über das Autenrieth-Koenigsbergersche Kolorimeter als Hämometer.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Badischen Albert-Ludwigs-Universität

zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Hans Brückner

aus Oschatz i. S.

Jena 1911

Druck von Bernhard Vopelius.

Über das Autenrieth-Koenigsbergersche Kolorimeter als Hämometer.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Badischen Albert-Ludwigs-Universität

zu Freiburg i. Br.

ACAD. LUGD BAT. BIBL.

vorgelegt von

Hans Brückner

aus Oschatz i. S.

Jena 1911

Druck von Bernhard Vopelius.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

Dekan: Geheimerat Prof. Dr. VON KRIES. Referent: Prof. Dr. DE LA CAMP.

Dem Andenken

meiner lieben Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543126_0077

Es ist für den Arzt von außerordentlicher Wichtigkeit und praktischer Bedeutung, sich im gegebenen Falle möglichst rasch und genau über den Hämoglobingehalt des Blutes unterrichten zu können und dazu einen Apparat zur Hand zu haben, der übersichtlich und einfach konstruiert, die Bestimmungen in kurzer Zeit und mit hinreichender Genauigkeit auszuführen gestattet. Gerade auf dem Gebiete der Hämoglobinometrie haben sich nun in letzter Zeit die Methoden derartig verbessert und vervollkommnet, da man erkannt hat, wie außerordentlich wichtig in der Diagnostik und Prognose vieler Krankheiten eine Verminderung des Blutfarbstoffes ist daß es mir angezeigt erscheint, zu Beginn dieser Arbeit einen kurzen Überblick zu geben über die gebräuchlichsten Verfahren und Apparate für die Hämoglobinometrie, um dann erst zur Beschreibung des Autenrieth Königsberger schen Kolorimeters als Hämometer überzugehen.

In Sahlis „Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden" findet sich eine Zusammenstellung der zur Bestimmung des Hämoglobins angegebenen einfachsten und gebräuchlichsten Methoden. Am genauesten kommt man wohl zum Ziele, wenn man auf chemischen Wege aus einer genau bestimmten Menge Blutes das Hämoglobin isoliert und dann vergleicht, ob diese gefundene Menge der normaler Weise z. B. in 100 ccm Blut gesunder Individuen befindlichen Menge Hämoglobin entspricht. Diese Methode ist natürlich ihrer Umständlichkeit halber nicht für klinische Zwecke brauchbar, wohl aber für genaueste biologische Bestimmungen. Desgleichen muß die Klinik auf indirekte Bestimmung des Hämoglobins, die sich aus analytisch festgestellten Eisenwerten abgemessener Blutmengen ergibt, aus naheliegenden Gründen verzichten.

Neben dem direkten Farbenvergleich des Blutes zweier Individuen in genau abgemessenen Mengen, der wohl nur bei großen Differenzen im jeweiligen Hämoglobingehalt angenähert genaue Resultate gibt, bildete dann Welker ein Verfahren aus, das in neuerer Zeit von Talquist wesentlich verbessert und modifiziert wurde und dessen Prinzip darauf beruht, daß man einen auf Fließpapier angetrockneten Blutstropfen mit einer auf Papier aufgemalten Blutfarbstoffskala vergleicht, die den Prozentgehalt der jeweiligen Blutprobe an Hämoglobin empirisch angibt. Dieses Verfahren, das allerdings hinreichender Genauigkeit entbehrt, ist für die Praxis gut geeignet, insofern es schnell die Diagnose gestattet, ob eine wesentliche Verminderung des Hämoglobingehaltes in der entnommenen Blutprobe vorliegt oder nicht.

Vorzüglich und vor allem für genaue Messungen geeignet ist der Apparat von v. Fleischl, der von Miescher wesentlich verbessert wurde. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daß man eine genau abgemessene und in einem Mélangeur mit Wasser nach Wahl verdünnte Blutmenge vergleicht mit einem Goldrubinglaskeil, der durch ein Schraubengewinde auf genaue Farbengleichheit mit der Probe eingestellt werden kann. Der Hämoglobingehalt wird an einer empirisch geeichten Skala direkt abgelesen. Der Preis dieses Apparates ist infolge der sehr kostspieligen und schwierigen Herstellung des Testkeils ein sehr hoher, so daß er für die allgemeine praktische Anwendung wenig geeignet ist; auch können die Ablesungen nur bei künstlichem Licht vorgenommen werden. — Für genaue Messungen leistet diese Methode jedoch Hervorragendes, da, wie Sahli angibt, die Fehlergrenzen der gefundenen absoluten Hämoglobinmengen 0,15—0,22 Gewichtsprozent des Blutes nicht übersteigen, so daß das Instrument nahezu ebenso genau und dabei weit einfacher zu handhaben ist, wie das später noch zu erwähnende Spektrophotometer. Wesentlich einfacher und dabei viel weniger kostspielig ist das von Gowers angegebene Hämometer. Bei diesem Apparat wird eine genau abgemessene Blutmenge (20 cmm) in einem

kalibrierten Cylinderröhrchen soweit mit destilliertem Wasser verdünnt, bis sie genau dieselbe Farbenitensität zeigt, wie eine durch Pikrokarmin gefärbte Vergleichslösung. Die Nachteile dieser Methode beruhen, abgesehen von den subjektiven Ablesefehlern jeder Farbenvergleichung auf der geringen Haltbarkeit der Testlösung. Zudem entspricht die Farbe der Standardlösung nicht genau der des Blutes.

Dies veranlaßte dann Sahli, das Verfahren dahin zu modifizieren, daß er als Testlösung ein Hämoglobinderivat wählte, welches über längere Zeit hinaus haltbar ist. Nach reichlichen Versuchen fand der Autor im salzsauren Hämatin ein Vergleichsobjekt, das für die kolorimetrische Hämoglobinbestimmung vorzüglich geeignet war und absolute Farbengleichheit mit der zu untersuchenden Blutprobe, die ja gleichfalls mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure angesetzt wird, garantierte. Auch dieser Methode haften Mängel und Nachteile an. Die salzsaure Hämatinlösung, die sich im Teströhrchen befindet, blaßt nach ca. 1 Jahr etwas ab, so das es sich empfiehlt, dieselbe hin und wieder zu erneuern. Die Bauart des Apparates und die Ausführung der Hämoglobinbestimmung mittels Sahlis Hämometer ist ja bei der großen Beliebtheit, deren sich der Apparat erfreut, und bei der weiten Verbreitung, die derselbe gefunden hat, hinreichend bekannt, so daß es sich erübrigt, hier näher darauf einzugehen. Die Genauigkeit der Ablesungen ist eine für praktische Zwecke, für welche Sahlis Hämometer ja bestimmt ist, völlig genügende.

In allerjüngster Zeit hat nun Plesch, der vor einigen Jahren schon einen sehr sinnreichen Apparat zur Hämoglobinometrie, das sogenannte Chromophotometer angab, eine Methode veröffentlicht, nach der man mit großer Genauigkeit Hämoglobinbestimmungen ausführen kann: Der Autor benutzt als Vergleichsobjekt mit der zu untersuchenden Blutprobe einen Keil, welcher eine mit Kohlenoxyd gesättigte Blutlösung enthält. Diese Standardlösung ist in ihrer Farbenqualität lange Zeit haltbar. Das Pleschsche Verfahren lehnt sich an die früher schon von Hoppe-Seyler, Hüfner und Régnard

angegebenen Methoden an. Der neue Apparat wird Kolbenkeilhämoglobinometer genannt und gibt bei einfacher Anwendungsweise sehr genaue Resultate. Des weiteren seien noch einige Methoden erwähnt, deren Prinzip auf spektrophotometrischer Grundlage beruht und die die größte Genauigkeit garantieren. Dazu gehört das spektrophotometrische Verfahren der Hämoglobinbestimmung, wie es zuerst von Vierordt angegeben und von Hüfner weiter ausgebildet wurde. Für genaueste physiologische Messungen leistet diese Methode Vortreffliches, für praktische Zwecke ist sie wenig geeignet. Sehr wenig angewendet, aber sehr geistreich ist dann endlich eine Art der Hämoglobinbestimmung, die Gärtner 1901 angab. Er fixierte mittels seines Hämophotometers die Intensität einer Blutfarbstofflösung neben einem gefärbten Glaskeil auf einem photographischen Papier und brachte sie dann nach Entwicklung miteinander zur Vergleichung. Zum Schluß sei noch die Hoppe-Seylersche Doppelpipette erwähnt, die wegen der Umständlichkeit ihrer Anwendung fast gänzlich vom praktischen Gebrauche zurückgedrängt ist.

Technischer Teil.

Ich komme nun nach diesem allgemeinen Überblick über die Methoden der Hämoglobinbestimmung zu meinem eigentlichen Thema. —

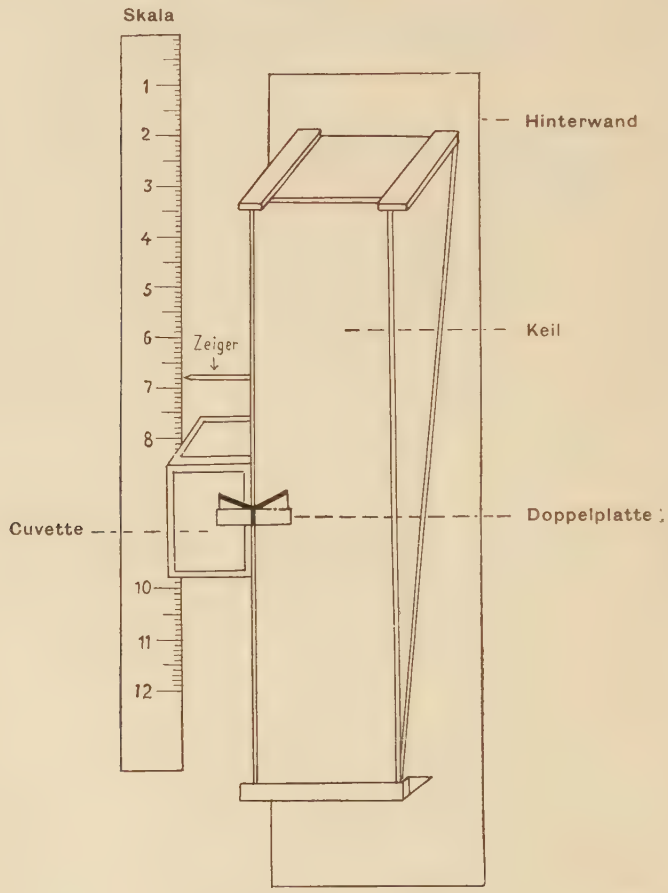
Autenrieth und Königsberger haben ein neues Kolorimeter angegeben, das sich im Prinzip dem von v. Fleischl Miescher konstruierten Keilkolorimeter anlehnt. Während aber dort ein fester gefärbter Keil benutzt wird, besteht bei diesem Apparat der Konus aus einem in Keilform gebauten Glasbehälter. Es ist klar, daß dieser Apparat insofern eine Universalität für kolorimetrische Bestimmungen überhaupt besitzt, als dieses Keilgefäß mit Testflüßigkeit jeder beliebigen Farblösung und Farbkonzentration angefüllt werden kann. —

In einer ersten Mitteilung haben die Autoren bereits Methoden zur kolorimetrischen Bestimmung von Kreatinin, Chrom, Jod, Eisen, Indican angegeben, später dieselben auch auf eine kolorimetrische Zuckerbestimmung unter Verwendung der Bang'schen Lösung erweitert. Es gelingt so, mittels dieses Apparates, der komplett mit sämtlichen Keilen und Testflüßigkeiten geliefert werden kann, auf einfache Weise und in kurzer Zeit kolorimetrische Bestimmungen auszuführen, gewiß ein großer Vorteil für klinische Zwecke.

Auf eine Aufforderung beider Autoren fiel mir die Aufgabe zu, das Kolorimeter und eine beigegebene Farbtestlösung auf ihre Verwendbarkeit für klinische Hämoglobinbestimmungen zu prüfen. Der anfangs mir dazu überlassene Apparat, der zunächst nur eine rohe, leidlich handliche Form besaß, hat nun im Laufe meiner Untersuchung manche Änderung und Umformung erfahren, die im Interesse der exakten Ablesung und

einfachen Handhabung nötig waren. Schließlich hat der Apparat die äußere Gestalt angenommen, wie sie in den folgenden Zeilen beschrieben sein soll.

Figur I



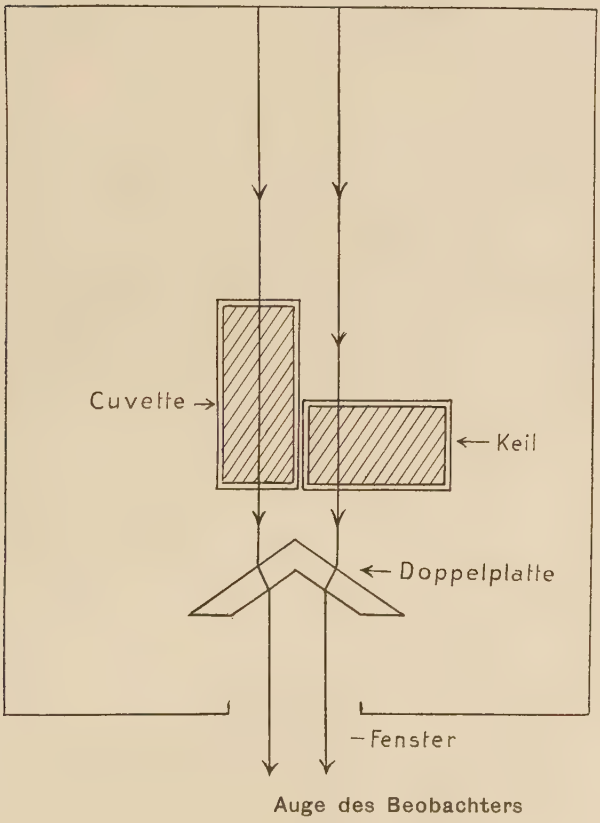
Er besteht aus einem braunen Kasten von 18 cm Höhe und 7.0 × 5.5 cm Bodenfläche, der oben durch einen Deckel verschlossen ist. Die Vorderwand des Apparates besitzt am unteren Ende des oberen Drittels einen rechteckigen Ausschnitt (1.1 × 0.5 cm) und ist völlig schwarz gefärbt. Die Notwendig-

keit gerade dieser Fenstergröße soll später noch begründet werden. Hinter diesem Ausschnitt ist eine Helmholtz'sche Doppelplatte angebracht, auf welche ich noch näher zurückkommen werde. Gegenüber dem kleinen Fenster an der Hinterwand des Apparates befindet sich ein großer rechteckiger Ausschnitt von 5 cm Breite und 13 cm Höhe, durch den das Licht einfällt und vor dem ein über einer Milchglasscheibe auf einem schwarzen Brettchen montierter Keil durch ein Zahnradgetriebe bewegt werden kann. Der Keil ist durch eine Federvorrichtung so befestigt, daß er durch einfachen Druck jederzeit leicht gegen einen anderen Testkeil ausgewechselt werden kann. Die Vorderfläche des Keils läuft, wie die Figur zeigt, genau senkrecht nach unten, während die Hinterfläche eine schiefe Ebene bildet. Links vom Keil befindet sich eine in Zentimeter eingeteilte Skala. Der Rahmen des Apparates trägt an seiner linken Seitenwand ein Zeigerchen, an dem die Skala vorbeigleitet und das den jeweiligen Stand des Keils in Zentimeter-Höhe der Skala angibt, bei welchem Farbengleichheit zwischen Testflüssigkeit und Blutprobe besteht. Am rechten Rand der Holzplatte verläuft eine Zahnreihe, auf welcher durch Radübertragung der Keil nach oben und unten beweglich ist. Direkt hinter dem Keil in die Holzplatte fest eingelassen, befindet sich, der Länge des Keils genau entsprechend, eine Milchglasscheibe, durch die das Licht einfällt. — An der Innenfläche der linken Seitenwand des Apparates direkt neben dem Keil montiert, ist eine, in einem kleinen auswechselbaren Holzvorbau, den man nach oben herausziehen kann, befindliche Cuvette aus plan parallel gestellten Glaswandungen eingelassen. Diese Cuvette nimmt die zu untersuchende, mit einer geeigneten Flüssigkeit verdünnte Blutprobe auf. Dieser kleine Trog ist so konstruiert, daß seine Vorderfläche entsprechend der Vorderwand des Keils gerade nach abwärts verläuft, während die Hinterwand absolut parallel der an sich geneigt verlaufenden Hinterfläche des Testkeils, eine schiefe Ebene darstellt, wodurch für den Gang der Strahlen für Keil und Trog die gleichen optischen

Bedingungen geschaffen werden. Die Cuvette besitzt einen Eichstrich, der einen Inhalt von genau 2 ccm anzeigt. Zahlreiche von mir ausgeführte Proben und Messungen hatten ergeben, daß bei dem Fassungsraum des Troges von 2 ccm die günstigsten Bedingungen für ein möglichst leichtes und von subjektiven Fehlern freies Beobachten im Ablesen bestanden. Oberhalb und unterhalb dieser Menge waren Ablesefehler in vermehrter Anzahl zu bemerken. Zwischen dem Trog, welcher mit seiner einen Breitseite nach der Seitenfläche des Keils hinschaut, und Keil ist ein Spalt von etwa 1 mm Breite, der durch die Helmholtz'sche Doppelplatte auf eine feine, schwarze Trennungslinie reduziert wird. Die Vorderwand des Apparates enthält, wie ich schon eingangs erwähnte, hinter dem rechteckigen Ausschnitt eine Doppelplatte, welche eine sehr genaue Farbenvergleichung ermöglicht, da sie den Spalt zwischen Trog und Keil fast gänzlich zum Verschwinden bringt. Bei vielen der jetzt gebräuchlichen Kolorimeter befindet sich zwischen den beiden zu vergleichenden Gefässen ein dunkler Zwischenraum, wodurch die Genauigkeit der Vergleichung und Ablesung bis auf die Hälfte vermindert werden kann. — Ganz besondere Sorgfalt wurde bei der Anfertigung des Keils aufgewendet. Er ist 12 cm lang und am oberen Ende 2 cm breit. Die spitz zulaufenden Seitenwände sind aus mattem Glase angefertigt. Den anfänglich durch Verwendung ungeeigneter Kittsubstanzen (bleihaltige Kitte) erfolgten Aenderungen der den Keil füllenden Farbtestlösung ist durch Wahl bleifreier, besonders präparierter Kittmasse vorgebeugt. Die Wände des Keils sind nun so aneinander befestigt, daß die Testlösung nie direkt mit der Kittmasse in Berührung kommen kann, so daß Veränderungen in der Farbe der Testlösung durch irgend welche chemischen Umsetzungen jetzt ausgeschlossen sind. Unsere Testlösungen haben sich in diesem Gefäß bis heute unverändert erhalten. Vor allem sind die beiden Hauptflächen am unteren Ende so fein abgeschliffen und aneinander gepreßt, daß Glas an Glas stößt. Oben trägt der Keil eine Metallplatte und kann durch eine kleine Stell-

schraube befestigt werden. Die Testflüssigkeit stellt eine anorganische Salzlösung dar, deren Zusammensetzung Fabrikgeheimnis ist. Sie ist optisch völlig gleichwertig, leicht reproduzierbar und außerordentlich haltbar. Der Gang der Strahlen im Kolorimeter wird durch die nachfolgende kleine

Figur II
Gang der Lichtstrahlen



Skizze hinreichend erläutert. — Das von hinten durch die Milchglasscheibe in parallelen Strahlen einfallende Licht geht durch Trog und Keil nach vorn und wird dann durch die Doppelplatte im Auge vereinigt. Ein großer Vorzug des

Apparates liegt darin, daß, wie ich bereits erwähnte, die Gefäße, in denen sich die miteinander in ihrer Farbe zu vergleichenden Flüssigkeiten befinden, planparallele Wandungen besitzen. Dadurch wird überall die gleiche Farbenintensität erzielt, da die Schichtdicke überall die gleiche ist. Auf diesen Punkt der Konstruktion ist besonders Wert gelegt, da selbstverständlich die Vergleichung zweier gefärbter Schatten in Behältern mit reflexfreien Flächen zu größerer Genauigkeit führen muß, als etwa eine Farbbeobachtung in abgerundeten oder röhrenförmigen Gläsern. Natürlich werden, wie aus der beigegebenen Skizze ersichtlich ist, auch hier nicht ideale Verhältnisse eingehalten, da ja wohl durch eine plane Vorderfläche, nicht aber durch eine planparallele, sondern konische Masse durchgeschaut wird. Es wird also innerhalb einer großen, dem Auge freiliegenden Fläche insofern eine Farbenvergleichung schwer fallen, als bereits die Testfarbenlösung im Keil, wegen der ihm eigenen konischen Form am oberen Rande dichter, d. h. dunkler erscheint als in den unteren Teilen. Dieser Fehler wird sich umsomehr verringern, je kleiner die dem Auge zur Prüfung freigegebene Farbenfläche sein wird. Dies war gerade der Grund, der mich veranlaßte, die Fenstergröße, d. h. die freie Farbenfläche auf das oben bereits angegebene Größenmaß zu reduzieren und ihr eine größere Breite als Höhe zu geben. Die anfängliche Nichtbeachtung dieser Tatsache hatte zahlreiche Unrichtigkeiten in meinen Bestimmungen verursacht. — Meine engere Aufgabe bestand nun darin, den vorliegenden Apparat und die ihm beigegebene Standartlösung, bezw. den mit ihr gefüllten Keil, zu eichen. Mit anderen Worten: es mußte eine Blutverdünnung festgestellt werden, die einem normalen Blute gegeben werden muß, um in der verdünnten Lösung eine Farbenintensität zu besitzen, welche mit der im Keil befindlichen Farbendichte der Testflüssigkeit verglichen werden konnte. Dabei mußte eine solche Farbendichte resultieren, die erstens dem Auge in ihren Abstufungen leicht erkenntlich war und die zweitens einer Höhenstellung des Keils entsprach, welche auf Grund der ganzen Konstruktion

der Keilbeweglichkeit überhaupt möglich war. Wir entschieden uns nach zahlreichen Probeversuchen für eine Blutmenge von 20 cmm (Cubikmillimeter) und verdünnten dieselben, wie bereits erwähnt, auf 2 ccm (Cubikzentimeter). — Nach dem Vorgange von Sahli wählten wir als Verdünnungsflüssigkeit für die entnommene Blutprobe, da die Farbe der Testlösung unseres Keils genau der einer salzsauren Hämatinlösung entspricht, reinste $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure (Merck) und zwar wurden nach längeren Versuchen die mittels einer genau geeichten Capillarpipette aus dem Ohre entnommenen 20 cmm Blut, wie schon erwähnt, auf 2 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure verdünnt — so daß also genau eine Verdünnung 1 : 100 bestand. Dadurch wurde erreicht, daß der gefundene Nullpunkt der Skala, der einem Hämoglobingehalt von 100 % entsprechen sollte, nicht zu weit nach dem breiten, dunklen Ende des Keils zu gelegen kam, denn die Ablesung wird natürlich umso schwieriger und ungenauer, je dichter und dunkler die Vergleichsschicht im Keil ist, da dann feine Unterschiede in der Farbennuance beider Vergleichsobjekte sehr schwer zu erkennen sind. Bei stark anämischen Blut wird es sich vielleicht empfehlen, mit etwas stärkerer Konzentration zu arbeiten, also etwa mit einer Verdünnung 20 cmm Blut auf 1 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure. Davon soll später noch die Rede sein. Die Art der Ausführung einer Hämoglobinbestimmung geschieht nun folgendermaßen: Man mißt mittels einer Capillarpipette 20 cmm des zu untersuchenden Blutes ab und bringt dies in die Kuvette des Kolorimeters, in die man vorher ca. 1 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure gefüllt hat. Durch zwei- bis dreimaliges Aufsaugen von wenig $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure und Ausblasen dieser Spülflüssigkeit in die Cuvette, entleert man alle etwa noch vorhandenen Blutreste aus der Pipette. Darauf füllt man mittels eines kleinen Hebers genau bis zur Marke, die einem Gehalt von 2 ccm entspricht, auf und rührt mit einem kleinen Glasstäbchen die Mischung vorsichtig um. Nun stellt man die Kuvette in das Kolorimeter und sieht dann durch das Fenster des vorderen Schiebers, indem man den Apparat in deutliche Sehweite vom

Auge hält und zwar so, daß zwischen der Fläche auf der rechten Seite, welche das Licht enthält, das durch den Keil gegangen ist und der Fläche links mit Licht, das durch den Trog gegangen, weder eine Trennungslinie noch ein Zwischenraum sichtbar ist. Hierbei richtet man den Apparat gegen den Himmel oder gegen eine helle Wand. Dann verschiebt man mit dem Schraubengewinde den Keil, bis beide Flächen Farbengleichheit zeigen. Schließlich wird an der Skala der Stand des Zeigers in Zentimeter-Höhenabstand abgelesen und aus der beigegebenen Eichungskurve in Prozent Hämoglobin umgerechnet. Die Eichung des Keils erfolgte nun folgendermaßen:

Wir wählten zunächst einen notorisch gesunden jungen Mann und entnahmen aus dem sorgfältig gereinigten Ohrläppchen 20 cmm Blut. Diese wurden in einem Cylinderchen, das bereits vorher ca. 1 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure enthielt, genau auf 2 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure aufgefüllt. Auf genaueste Ablesung mit konstanten Bedingungen wurde geachtet. Von dieser Stammlösung wurden 5 mal 2 ccm in 5 Cylinderchen genauestens hergestellt. Nach 1—2 Minuten nahm die Lösung die typische Farbe der salzsauren Hämatinlösung an und konnte nun zur kolorimetrischen Untersuchung in die Kuvette eingefüllt werden. Sämtliche Ablesungen wurden, wie ich betonen möchte, zu derselben Tageszeit bei hellem klaren Wetter unter Vermeidung direkter Betrachtung gegen Sonnenstrahlen ausgeführt. Zur Vermeidung subjektiver Ablesefehler wurden von drei Kollegen Einzelablesungen und Bestimmungen aufeinanderfolgend vorgenommen, und zwar machte jeder für sich je 6 Ablesungen. Aus den unabhängig gefundenen Werten wurde das arithmetische Mittel gezogen, um möglichst große Genauigkeit für die einzelnen Punkte zu erhalten. Wir nahmen an, daß das untersuchte Blut einen Hämoglobingehalt von etwa 100% besitze; Kontrollbestimmungen mit bereits in der Klinik üblichen Methoden bestätigten diese Annahme. Zunächst wurde der Teilstrich der neben dem Keil befindlichen Skala bestimmt, bei dem für den Beobachter Farbengleicheit besteht

zwischen Testlösung und Stammlösung. Dieser Teilstrich mußte den Ausgangspunkt für die Tarierung des Keils darstellen und einem Hämoglobingehalt von 100 % entsprechen.

Es fanden sich bei der Ablesung folgende Resultate:

D.:	1,5	1,7	1,6	1,5	1,8	1,9
K.:	1,9	1,9	2,0	1,8	1,7	1,9
v. H.:	2,1	1,9	1,6	1,9	1,8	1,7
Br.:	2,3	2,1	2,0	2,2	2,0	2,1

Mittelwert: 1,9.

Dieser Punkt 1,9 wurde nun in ein Koordinaten-System auf Millimeterpapier eingetragen, auf dessen Abrisse die Prozentzahlen für das Hämoglobin und auf dessen Ordinate die neben dem Keil befindliche Centimeter-Skala aufgetragen war. Um nun weitere Punkte in diesem System zu finden, verdünnten wir die Stammlösung mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure genauestens auf die Hälfte, um den Punkt zu ermitteln, der 50 % Hämoglobin entspricht. Dabei wurden folgende Ablesungen gemacht:

D.:	6,4	6,3	6,3	6,3	6,2	6,2
K.:	6,2	6,3	6,1	6,3	6,4	6,2
v. H.:	6,4	6,4	6,4	6,4	6,5	6,6
Br.:	6,6	6,6	6,7	6,7	6,6	6,5

Mittelwert: 6,4.

Dieser Wert wurde im Koordinatensystem, 50 % Hämoglobin entsprechend markiert.

Der dritte Punkt, der 25 % Hämoglobin entsprechen sollte, wurde gefunden, indem man 1 Teil der Stammlösung mit 3 Teilen $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure versetzte, gut mischte und die Flüssigkeit dann zur kolorimetrischen Untersuchung in die Cuvette entleerte.

Es ergaben sich dabei die folgenden Werte:

D.:	8,5	8,6	8,6	8,5	8,5	8,5
K.:	8,5	8,5	8,4	8,4	8,6	8,5
v. H.:	8,5	8,5	8,5	8,6	8,5	8,5
Br.:	8,6	8,4	8,6	8,6	8,6	8,6

Mittelwert: 8,6.

Durch Mischen von 3 Teilen Stammlösung und 1 Teil $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure wurde der Wert für 75% Hämoglobin gefunden. Bei der Ablesung ergab sich:

D.:	4,5	4,7	4,8	4,7	4,5	4,6
K.:	4,5	4,4	4,6	4,7	4,7	4,5
v. H.:	4,7	4,4	4,7	4,7	4,5	4,5
Br.:	4,5	4,4	4,6	4,7	4,5	4,4

Mittelwert: 4,6.

Dieser Punkt wurde in bekannter Weise im Koordinatensystem festgelegt.

Nachdem diese 4 Werte für 100, 75, 50, 25% Hämoglobin ermittelt waren, suchten wir durch entsprechende Weiterverdünnung unserer Stammlösung auch einige Zwischenwerte zu finden. Aus je 24 Ablesungen ergaben sich dabei folgende Zahlen:

Für	10%	Hgb.	Punkt	9,65
„	20%	„	„	8,90
„	30%	„	„	8,05
„	40%	„	„	7,21
„	70%	„	„	4,85
„	80%	„	„	4,02
„	90%	„	„	2,95

Verbindet man nun die gefundenen 11 Punkte miteinander, so sieht man, daß die für die Prozentzahlen 10—50 gefundenen Werte alle in einer geraden Linie liegen, während die Verbindung der Punkte von 50—100% eine gebrochene Linie darstellt. Dies liegt einzig und allein daran, daß, wie ich schon oben erwähnte, die Ablesungen in den dickeren Schichten des Keils so viel schwieriger sind, als in dem dünnen, spitzen Ende desselben, denn das Auge kann natürlich feine Unterschiede in der Farbennuance viel besser unterscheiden, je dünner und durchsichtiger die zu vergleichenden Schichten sind. Die von den Beobachtern gemachten Einzelablesungen zeigen ja auch bei den Prozentzahlen 100, 75, 50 viel größere Differenzen (bis zu 4 Teilstrichen), als bei den Werten unter

50%, wo fast alle Beobachter die gleichen Ablesungen machten. Daher kam es besonders darauf an, bei den weiteren, nun folgenden Bestimmungen möglichst genau übereinstimmende Werte auch für die höheren Konzentrationen zu finden, denn die Verbindungslinie sämtlicher Punkte muß ja mathematisch eine absolut gerade Linie darstellen. — Eine zweite Serie von Bestimmungen zur Eichung des Keils wurde mit einer Blutprobe eines anderen völlig gesunden Studenten ausgeführt, der beiläufig nach Sahli genau 100% Hämoglobin hatte, und dessen Blutausstrichpräparat völlig normale Verhältnisse zeigte. Wir entnahmen hier ebenfalls aus dem Ohrläppchen, in das wir einen Schnitt legten, um möglichst fließendes Blut zu erhalten und etwaiges Drücken der Wunde zu vermeiden, 5 mal je 20 cmm Blut und stellten in bekannter Weise die Stammlösung her, von der wir dann im ganzen 10 ccm besaßen. Analog dem ersten Vorgehen wurde nun auch hier zuerst der sogenannte Nullpunkt bestimmt, d. h. der Punkt, der einem Gehalt von 100% Hämoglobin in der Kurve entsprechen sollte. Aus je 24 Ablesungen, die wiederum von vier Personen unabhängig voneinander gemacht wurden, fanden sich unter sonst völlig gleichen Bedingungen wie bei der ersten Bestimmung als Mittelwerte für

100%	Hgb.	Punkt	2,10	der	Skala
75%	„	„	4,30	„	„
50%	„	„	6,47	„	„
25%	„	„	8,40	„	„

Die Verbindungslinie dieser 4 Punkte zeigt nur noch ein kleines Knie bei dem Skalenpunkt 4,3.

Nun wurden auch hier wieder in bekannter Weise die Zwischenwerte ermittelt und zwar:

Punkt	8,87	für	20%	Hgb.
„	8,05	„	30%	„
„	7,30	„	40%	„
„	5,65	„	60%	„
„	4,80	„	70%	„

Punkt 3,91 für 80 % Hgb.
„ 3,22 „ 90 % „

Diese Werte liegen unterhalb 50 % alle, oberhalb 50 % zum größten Teil in der konstruierten geraden Eichungslinie. In einer dritten Bestimmung, die jetzt ausschließlich mit Blutproben desselben Individuums in der Weise ausgeführt wurde, daß wir nicht die Stammlösung weiter verdünnten, sondern eine direkte Verdünnung der entnommenen 20 cmm Blut so herstellten, daß wir 4 Proben zu 20 cmm in 4 mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure beschickten Cylinder direkt entleerten und dann entsprechend anfüllten, so daß das erste Röhrchen 100 %, das zweite 75 %, das dritte 50 % und das vierte 25 % Hämoglobin enthielt, ergaben sich bei der Ablesung folgende Werte:

Für 100 % Hgb.-Teilstrich 2,21 der Skala
„ 75 % „ „ 4,31 „ „
„ 50 % „ „ 6,46 „ „
„ 25 % „ „ 8,40 „ „

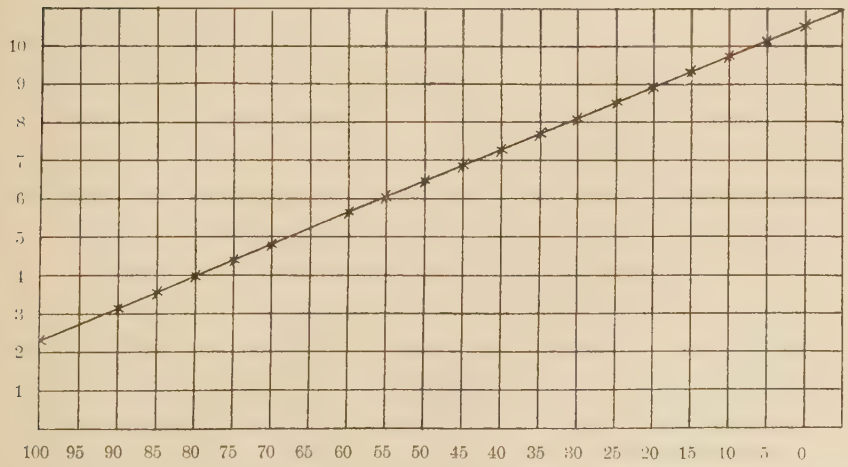
Das Resultat dieser Art von Kalibrierung durch direkte Verdünnung jeder einzelnen Blutprobe an sich war also genau das gleiche wie bei der indirekten schrittweise fortschreitenden Weiterverdünnung einer einzigen Blutprobe. Vor allem galt es nun, für die Punkte, die oberhalb 50 % liegen, genaue Werte zu finden, da sich gerade für diese Punkte noch Differenzen in den Einzelablesungen fanden. Zu diesem Zwecke wurden in genau derselben Weise wie bereits angegeben, noch 10 weitere Bestimmungen ausgeführt und zwar durch entsprechende Weiterverdünnung einer Stammlösung von 20 cmm Blut auf 2 ccm Gesamtmenge $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure. Auch hier wurden wieder je 24 Einzelablesungen vorgenommen und aus ihnen das arithmetische Mittel gezogen. Die Blutproben stammten von völlig gesunden kräftigen Männern, die, wie ich erwähnen möchte, in keinem Falle unter 97 % Hämoglobin, nach Sahli gemessen, besaßen. Es wurden mehrere Kontrollbestimmungen mit Blutproben desselben Individuums zweimal ausgeführt, um die Richtigkeit der erstgefundenen Resultate zu prüfen. Alle

die hierbei gefundenen Zahlen und Werte genau anzuführen, würde zu weit führen. Ich gebe daher nur das Endresultat an, das sich aus den Mittelwerten der zahlreichen Einzelablesungen ergab. Nach Eintragungen in das Koordinatsystem fand sich die nachfolgende Reihe von im Versuch festgestellten Werten:

100 %	Hgb.-Teilstrich		2,30
90 %	„	„	3,15
80 %	„	„	3,95
75 %	„	„	4,35
70 %	„	„	4,75
60 %	„	„	5,60
50 %	„	„	6,45
40 %	„	„	7,25
30 %	„	„	8,05
25 %	„	„	8,40
20 %	„	„	8,85
10 %	„	„	9,70

Die Verbindungslinie aller dieser Punkte ergibt, wie die folgende Figur der endgültigen Eichungskurve zeigt, eine gerade Linie, die man erhält, wenn man die Skalenwerte für

Figur III



10%, 20%, 30%, 40% miteinander verbindet und sie nach dem Nullpunkt zu verlängert.

Um nun die Richtigkeit der gefundenen Eichungskurve zu prüfen, waren noch zahlreiche Kontrollbestimmungen in folgender Weise nötig. Es wurde eine Blutstammlösung in der bekannten Weise (20 cmm Blut auf 2 ccm Gesamtmenge $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure) hergestellt. Alsdann wählten wir einige anämische Patientinnen und bestimmten deren Hämoglobingehalt mittels des neuen Hämoglobinometers unter Zugrundelegung der gefundenen Eichungskurve. Hierbei fand sich für das Blut eines chlorotischen Mädchens Farbengleichheit zwischen Keil und Blutprobe bei Punkt 6,4 der Skala. Dieser Wert entspricht nach der Eichungskurve genau einem Hämoglobingehalt von 50%. Nach Verdünnung dieser Blutlösung auf die Hälfte, id est 25% (1 : 200) zeigt der Punkt 8,4 Farbengleichheit. Nun wurde die Stammlösung der gesunden Individuen, die einem Gehalt 100% Hämoglobin unserer Eichungskurve entspricht, genauestens auf die Hälfte verdünnt und dann auf ihren Hämoglobingehalt geprüft. Hierbei fand sich bei der Ablesung der 6,45 der Skala, nach Weiterverdünnung auf ein Viertel der Punkt 8,4. Mithin zeigt sich beim Vergleich einer Verdünnung eines sicherlich gesunden Blutes auf 25% Hämoglobingehalt, mit einem halbverdünnten anämischen Blut, das nach der Eichungskurve 50% Hämoglobin besitzen mußte, absolute Farbengleichheit. Diese Übereinstimmung beider Punkte beweißt erneut die Richtigkeit der vorher gefundenen Eichungswerte in der Eichungstabelle.

Es seien jetzt 5 weitere derartige Kontrollbestimmungen durch Nachverdünnung eines anämischen Blutes mitgeteilt:

1. S.: 50 J., Frl., Anämia. Carc. ventriculi

abgelesen 7,30 = 39% Hgb.

Stammlösung eines gesunden Blutes, in der Verdünnung 1 : 100, entsprechend 100% Hgb. künstlich verdünnt auf 40% ergab den Skalenpunkt 7,20, auf 20% verdünnt Skalenpunkt 8,85.

2. G.: 25 J., Frl., Chloroanaemia

abgelesen: 5,9 = 55 % Hgb.
„ 8,2 = 28 % „

Stammlösung künstlich verdünnt auf 28 % ergab Punkt 8,1.

3. T.: 30 J., Fr., Tbc. pulm. II. Stad.

abgelesen: 5,6 = 60 % Hgb.
„ 8,1 = 30 % „
„ 9,3 = 15 % „

Stammlösung künstlich verdünnt auf

60 % 30 % 15 % ergab die Werte
5,5; 8,05; 9,3.

4. K.: 32 J., Frl., Typhus Rekonvaleszentin

abgelesen 6,15 = 53 % Hgb.
„ 8,25 = 27 % „
„ 9,33 = 15 % „

Stammlösung künstlich verdünnt auf 27 % ergab 8,3 Skalenpunkt.

5. M.: 28 J., Frl., Endokarditis. Anämia

abgelesen 4,75 = 70 % Hgb.
„ 7,50 = 35 % „

Stammlösung verdünnt auf 70 · 35 % ergab P. 4,6 · 7,6 d. Skala.

Die gefundene Eichungskurve gilt nun selbstverständlich nur für eine ganz bestimmte Höhenlage, etwa bis zu 500 m ü. M. Der Arzt, der im Hochgebirge, zwischen 1000 und 1500 m tätig ist, muß sich entsprechend den klimatischen, meteorologischen und geographischen Bedingungen seines Wirkungskreises eine dem Ort entsprechende Eichungskurve anlegen. Es ist eine bekannte Tatsache, daß sich von einer gewissen Höhenlage an die Zahl der roten Blutkörperchen und mit ihnen auch der Hämoglobingehalt des Blutes vermehren. Worauf dieser interessante Einfluß des Höhenklimas auf die roten Blutkörperchen und ihren Farbstoffgehalt beruht, ist noch nicht hinreichend aufgeklärt. Viault, Miescher, Egger u. a. nehmen an, daß es sich dabei um eine Austrocknungserscheinung, Vermin-

rung des Plasmas infolge der trockenen Höhenluft handle; andere glauben, daß nur eine andere Verteilung der roten Blutkörperchen vorliege und daß nicht eine eigentliche Vermehrung derselben eintrete. Jedenfalls ist es sehr wichtig, daß entsprechend der Steigerung der Zahl der roten Blutkörperchen im Hochgebirge konstant auch eine Vermehrung des Hämoglobingehaltes des Blutes sich findet. Kurzum, der Arzt, der im Hochgebirge Bestimmungen über den Hämoglobingehalt ausführen will, wird sich bei Anwendung dieses Hämometers eine eigene Eichungskurve herstellen müssen. Er wird sich zu diesem Zwecke eine Anzahl Individuen seines Wirkungskreises auswählen und in der hier vorgeschriebenen Weise aus mehreren Blutproben den Nullpunkt bestimmen, d. h. den Punkt, der in seinem Falle dem Höchstgehalt an Hämoglobin entspricht. Dann verdünnt er die Stammlösung genau auf die Hälfte, bestimmt den entsprechenden Punkt im Koordinatensystem und verbindet beide Punkte miteinander. So erhält er seine spezielle Eichungskurve, die natürlich der dem Apparat beigegebenen parallel verläuft. Natürlich läßt sich auch dann jederzeit eine neue Eichungskurve herstellen, wenn wirklich im Verlauf von Jahren eine Ablassung der Standardlösung im Keil stattfinden sollte.

Klinischer Teil.

Ich hatte nun Gelegenheit, in der Freiburger Medizinischen Klinik und in der Lungenheilanstalt Luisenheim für weibliche Kranke zahlreiche Hämoglobinbestimmungen mittels des Autenrieth Königsberger'schen Hämometers vorzunehmen und dabei seine klinische und praktische Brauchbarkeit zu erproben. In der Klinik untersuchte ich mehrere teils leichte, teils schwere Fälle von Anämie und Chlorose und verfolgte ihren Verlauf, indem ich von Zeit zu Zeit neue Hämoglobinbestimmungen vornahm. - Gelegentlich wurden auch Vergleichsbestimmungen mit Sahlis Hämometer vorgenommen, wobei sich zeigte, daß ein Hämoglobingehalt von 100 % bei Autenrieth Königsberger etwa einem solchen von 97 % bei Sahli entspricht. Auch Talquist's Verfahren wurde hin und wieder zum Vergleich herangezogen. Einige interessante Fälle von Chloroanämie, die sich unter Eisentherapie rasch besserten, seien hier kurz mitgeteilt:

	Autenrieth	Sahli
1. S. (22 J.)	29 %	27 %
2. M. (25 J.)	31 %	30 %
3. B. (19 J.)	28 %	25 %
4. K. (21 J.)	48 %	45 %

Nach zirka 4 Wochen zeigten die Patientinnen erhebliche Zunahmen im Hämoglobingehalt ihres Blutes:

1. S. auf 55 %
2. M. „ 60 %
3. B. „ 63 %
4. K. „ 70 %

In der Heilstätte wurde zunächst mit dem neuen Hämometer der Hämoglobingehalt des Blutes mehrerer, seit Jahren angestellter Personen bestimmt, die dauernd da beschäftigt waren. Dabei fand sich bestätigt, daß der Gehalt an Hämoglobin und die Zahl der roten Blutkörperchen im Gebirge deutlich erkennbar vermehrt sind, und daß man bei den Bestimmungen viel höhere Werte erhält im Vergleich zu den Zahlen, die man sonst im Tiefland findet. Es ergaben sich bei 5 Personen:

	Hämoglobin	Erythrozyten
B.	101	5,4 Mill.
M.	99	5,2 „
Z.	98	5,1 „
Schr.	102	5,4 „
Fr.	103	5,5 „

Darauf machte ich Bestimmungen an den neu aufgenommenen, weiblichen Patientinnen, die z. T. mit schwerem Lungenbefund in die Anstalt kamen. Bei allen konnte im Anfang ein Tiefstand des Hämoglobingehaltes festgestellt werden, der sich unter den günstigen Einflüßen des Höhenklimas und den diätetisch-hygienischen therapeutischen Maßnahmen rasch hob. Beistehende Tabelle zeigt bei den hier angeführten Patientinnen, die sämtlich 13 Wochen zur Kur in der Heilstätte blieben, und von denen 6 dem ersten, 6 dem zweiten Stadium nach Turben-Gerhardt's Schema angehörten, die Zunahme des Hämoglobingehaltes bei der Entlassung.

		Aufnahme	13 Wochen
	Stad.	Hgb.	Hgb.
1. Frl. S.	II.	63,5 %	75 %
2. „ J.	I.	73 %	80 %
3. „ K.	I.	70 %	80 %
4. „ E.	I.	72 %	78 %
5. „ W.	II.	62 %	71 %
6. „ S.	II.	72 %	85 %
7. „ N.	I.	79 %	89 %
8. „ O.	I.	72 %	82 %

	Stad.	Aufnahme Hgb.	13 Wochen Hgb.
9. Fr. W.	II.	60 %	69 %
10. „ A.	I.	78 %	86 %
11. „ St.	II.	75 %	85 %
12. Frl. K.	II.	70 %	78 %

Neben diesen hier angeführten Hämoglobinbestimmungen wurden noch zahlreiche andere mit dem Autenrieth Königsberger'schen Hämoglobinometer gemacht, auf die näher einzugehen hier natürlich zu weit führen würde.

Auf Grund dieser zahlreichen Bestimmungen und der Kenntnis der überwiegenden Anzahl der älteren Hämoglobinbestimmungsmethoden am Krankenbett muß ich dem neuen Hämometer eine große Anzahl Vorzüge zusprechen, die noch einmal kurz zusammenzufassen mir am Schlusse dieser Arbeit gestattet sei.

1. Haltbarkeit der als Testflüssigkeit benutzten Farblösung ohne Niederschlagsbildung nach längerer Zeit.

2. Äußerste Leichtigkeit und Sauberkeit der Handhabung, da beim Ausblasen und bei der Verdünnung des Blutes mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure in der Cuvette Verluste an Blut oder Lösung durch Ausspritzen oder Umschwenken wegfallen. Auch ist ein Mißlingen der Bestimmung durch unvorsichtige Überverdünnung über den Punkt der gesuchten Farbengleichheit hinaus nicht möglich, sofern bei der Nachfüllung des Keils die Markenhöhe (unterer Meniskus) genau eingehalten wird. Übrigens ist auch eine nicht ganz exakte Auffüllung um 1—3 Tropfen $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure über die Marke hinaus, bei der Tiefe der in der Cuvette befindlichen Flüssigkeitsschicht ohne Einfluß auf das Resultat der Bestimmung. Entsprechend der Form der Aufnahmekuvette ist eine große Reinlichkeit möglich. Die Anwendung mehrerer Cuvetten gestattet die Aufeinanderfolge mehrerer Hämoglobinbestimmungen in kurzer Zeit.

3. Die Genauigkeit der Ablesung der Farbengleichheit ist bei der Aufsicht auf ein ebenes, nicht konvexes Gesichtsfeld

(wie bei Sahli) und auf die relativ kleine Raumfläche des Beobachtungsfensters eine größere als bei der Bestimmung nach Sahli. Die Höhe des Beobachtungsfensters ist derart angemessen, daß die Farbendichte der Farbentestlösung für ein normal empfindliches Auge homogen und nicht, wie es bei seiner Aufbewahrung in einem Keilgefäß natürlich der Fall sein müßte, inhomogen erscheint.

4. Die Möglichkeit der selbständigen Eichung des Apparats durch den Besitzer auf Hämoglobinwerte über 100 % (nach Sahli) d. h. Einstellung des Apparats auf die klimatischen, meteorologischen oder geographischen Bedingungen, in denen der Arzt jeweils tätig ist.

Am Schlusse seiner Arbeit angelangt, erlaubt sich der Verfasser, seinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. de la Camp und den Herren Professor Dr. Autenrieth und Professor Dr. Königsberger für die Überlassung dieser Arbeit, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Samuely für die liebenswürdige Unterstützung bei Ausführung derselben seinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Abderhalden: Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Bd. III, Heft 2.
2. Sahli: Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden 1905.
3. Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. XL.
4. Zur Werth: Über Bestimmung des Hämoglobingehalts mit der Talquistschen Skala. Münch. med. Wochenschrift 1904, Bd. LI.
5. E. Miescher: Über die Beziehung zwischen Meereshöhe und Blutbeschaffenheit (Gesammelte Abhandlungen) 1897.
6. Franz Müller: Archiv für Anatomie und Physiologie. Suppl. Bd. CXXX 1901, Bd. CCCCXLIII 1906.
7. E. E. Butterfield: Zeitschrift für physiologische Chemie 1901.
8. J. Plesch: Chromophotometer, ein neuer Apparat zur Bestimmung der Konzentration von Farblösungen. Zeitschrift für klinische Medizin 1907, Bd. LXIII, Heft 5/6.
9. G. Gärtner: Neuer Apparat zur Bestimmung des Hämoglobingehalts im Blute. Münch. med. Wochenschrift, Bd. XLVIII.
10. J. Haldane: Determination of Hämoglobine. Journal of Physiologie 1901, Vol. 26.
11. H. P. T. Oerum: Über die Methoden der Hämoglobinbestimmung. Festschrift für Olaf Hammersen. Upsala 1906.
12. Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. LXII.
13. Strümpell: Lehrbuch der spec. Pathologie und Therapie.
14. Bacmeister: Dissertation, Göttingen 1905.
15. Münchner medizinische Wochenschrift 1900, Bd. XIX.
16. Münchner medizinische Wochenschrift 1910, Bd. XIX.
17. Münchner medizinische Wochenschrift 1901, Bd. X.
18. Münchner medizinische Wochenschrift 1904, Bd. XXX.
19. Berliner klinische Wochenschrift 1902.
20. Plesch: Münchner medizinische Wochenschrift 1910, Bd. XXII, S. 406. Deutsches Archiv für klinische Medizin 1910.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Hans Brückner, ev. luth. Konfession, wurde geboren in Oschatz (Sachsen) am 18. Januar 1885 als Sohn des Kgl. Sanitätsrates Dr. med. Rudolf Brückner und seiner Ehefrau Martha Marie, geb. Zeising. Nach Besuch der Bürgerschule und des Progymnasiums meiner Vaterstadt bezog ich Ostern 1898 das Kgl. Realgymnasium zu Döbeln, das ich Ostern 1904 mit dem Reifezeugnis verließ. Ich widmete mich dann an der Universität Leipzig dem Studium der Medizin, bestand S.-S. 1906 das Tentamen physicum und genügte im darauffolgenden Wintersemester meiner Dienstpflicht beim Kgl. Sächs. 8. Inf.-Rgt. Nr. 107 zu Leipzig. Ostern 1908 bezog ich die Universität Freiburg und beendete daselbst das med. Staatsexamen Anfang Dezember 1909. Vom 1. Januar 1910 bis zum 1. Mai 1910 war ich an der Medizinischen Universitätsklinik zu Freiburg, von da ab bis zum 1. November 1910 an den Lungenheilstätten Friedrichsheim und Luisenheim (Baden) als Medizinalpraktikant tätig, zur Zeit bin ich an der chirurgischen Universitätsklinik zu Freiburg beschäftigt.